**FICHE TECHNIQUE**

# GELOSE DE MACCONKEY

MILIEU SELECTIF POUR ENTEROBACTERIES

BK050HA
BM18008

## 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de MacConkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Entérobactéries tel que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et biologiques d'origine animale. Ce milieu est conforme à la formule décrite dans les chapitres harmonisés des Pharmacopée européenne et américaine.

## 2 HISTORIQUE

La formulation de MacConkey pour l'isolement des entérobactéries a de nombreuses fois été modifiée depuis l'origine. Celle-ci représente la formule "classique" utilisée depuis de nombreuses années, par des auteurs tels que Block et Ferguson qui trouvèrent le milieu très satisfaisant pour l'isolement des *Shigella* difficiles à cultiver.

## 3 PRINCIPES

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires et de cristal violet. Ce colorant inhibe principalement le développement des entérocoques et des staphylocoques.

La fermentation du lactose en acide est révélée en présence de rouge neutre par la formation de colonies roses ou rouges.

Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

## 4 PREPARATION

**Préparation du milieu déshydraté :**

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté (BK050) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes

✓ **Reconstitution :**
**50,0 g/L**

✓ **Stérilisation :**
**15 min à 121 °C**

**Préparation du milieu prêt-à-liquéfier :**

- Faire fondre le milieu ainsi préparé ou prêt-à-liquéfier (BM180) pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

**Note :** Le milieu peut être additionné de MUG (4-méthyl-umbelliféryl-ß-D-glucuronide) afin de détecter *Escherichia coli* (se référer à la fiche technique concernant le supplément MUG 50 mg, BS024).

## 5 MODE D'EMPLOI

**Détection de *E. coli* (chapitres harmonisés des Pharmacopées / NF EN ISO 21150)**

- A la surface du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 30-35 °C pendant 18 à 72 heures.

✓ **Ensemencement :**
**En surface**

✓ **Incubation :**
**18 à 72 h à 30-35 °C**

**Note** : Pour d'autres utilisations, se reporter au référentiel en vigueur.

## 6 LECTURE

Les colonies lactose-positif présentent une coloration rouge et sont entourées d'un halo de sels biliaires précipités. Les colonies lactose-négatif sont incolores.
L'identification du ou des microorganismes isolés doit être réalisée par des tests biochimiques et immunologiques.

## 7 FORMULE-TYPE

Cette formule-type peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de gélatine ........ 17,0 g
- Tryptone ........ 1,5 g
- Peptone pepsique de viande ........ 1,5 g
- Lactose ........ 10,0 g
- Sels biliaires ........ 1,5 g
- Chlorure de sodium ........ 5,0 g
- Rouge neutre ........ 30,0 mg
- Cristal violet ........ 1,0 mg
- Agar agar bactériologique ........ 13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

## 8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre beige rosé, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge violacé.

Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 32,5 °C (XP CEN ISO/TS 11133) :

| Microorganismes | | Croissance | Caractéristiques |
|---|---|---|---|
| [1]*Escherichia coli* | WDCM 00013 | Bonne, score 2 | Colonies rouges |
| [1]*Enterobacter aerogenes* | WDCM 00175 | Bonne, score 2 | Colonies rouges |
| [1]*Proteus vulgaris* | ATCC 13315 | Bonne, score 2 | Colonies incolores, sans envahissement |
| [1]*Staphylococcus aureus* | WDCM 00034 | Inhibée | - |
| *Escherichia coli* | WDCM 00012 | $P_R \geq 50\%$ | Colonies rouges |
| *Salmonella* Enteritidis | WDCM 00030 | $P_R \geq 50\%$ | Colonies incolores |

[1] Méthode qualitative

## 9 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-30 °C.
Milieu préparé en flacons : 6 mois à 2-8 °C (à titre indicatif).
Milieu préparé en boîtes : 15 jours à 2-8 °C (à titre indicatif).

**Milieu en flacons :** 2-8 °C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

## 10 PRESENTATION

**Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :**
Pack de 10 flacons de 100 mL ........................................................................................................ BM18008

**Milieu déshydraté :**
Flacon de 500 g ........................................................................................................................ BK050HA

## 11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


MacConkey. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg., 8: 333-379.

NF EN ISO 21567 (V 08-411). Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

NF EN ISO 21150 (T 75-604). Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection d'*Escherichia coli*.

XP CEN ISO/TS 11133-2/A1 (V 08-104-2/A1). Février 2011. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture. Amendement 1 : micro-organismes pour essai recommandés pour les milieux de culture les plus usuels.

Pharmacopée européenne. 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles. Recherche de microorganismes spécifiés. Solution et milieux de culture recommandés.

United States Pharmacopeia. Microbial Limit Tests.


## 12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK050/F/2003-01 : 7.
Date création : 01-2003
Date de révision : 03-2013
Motif de révision : Révision générale (§ 5 : Mode d'emploi ; § 8 : Souches de contrôle ; § 11 : Références bibliographiques)